

『マウス肝臓からの RNA 抽出と High-Salt Precipitation Solution の使用』

【方法】

ISOGEN のマニュアルにしたがって、マウス肝臓から Total RNA を抽出した。

ホモジネート液にクロロホルムを添加し、遠心して得られた水相 (500~600 μ l) に対して、以下の 2 通りのイソプロパノール沈殿方法により実験を行った。

<沈殿方法>

方法①: RNA を含む水相と等量のイソプロパノールを加える方法

方法②: RNA を含む水相の 1/2 量ずつの High-Salt Precipitation Solution 及びイソプロパノールを加える方法

【結果】

上記 2 通りの方法で得られた Total RNA を用いて、吸光度比(表 1)、UV/vis スペクトル(図 1)、アガロースゲル電気泳動(図 2)の結果を比較した。

表 1. 収量および吸光度比(4 回の抽出の平均値 \pm 標準偏差)

	Yield(μ g/mg tissue)	A260/A280	A260/A230
Isopropanol	6.69 \pm 0.23	1.71 \pm 0.01	1.06 \pm 0.05
High-Salt Precipitation +Isopropanol	5.79 \pm 0.18	1.85 \pm 0.01	1.54 \pm 0.12

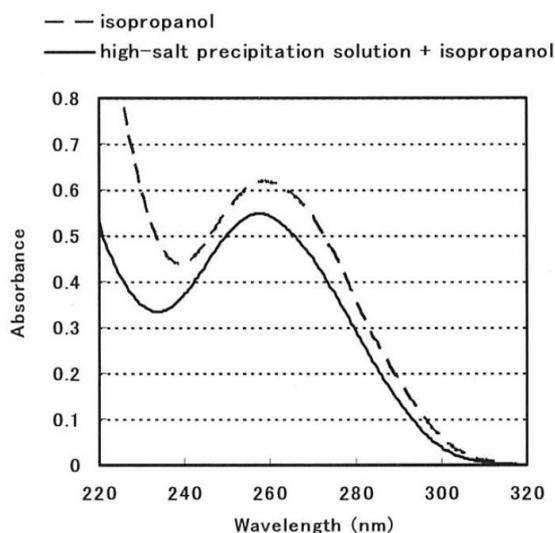


図 1. UV/vis スペクトル結果

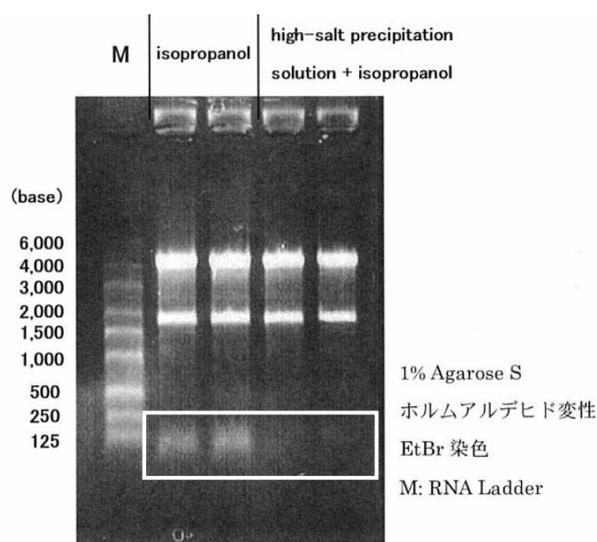


図 2. アガロースゲル電気泳動

吸光度比 (表 1) および UV/vis スペクトル測定 (図 1) の結果、High-Salt Precipitation Solution を用いて精製した Total RNA は A260/A280、A260/A230 の吸光度比の値ともに高く、ポリサッカライド等の夾雑物の混入を効果的に抑えている。しかし、アガロースゲル電気泳動 (図 2) の結果では、High-Salt Precipitation Solution を用いて精製すると、低分子 RNA(白枠)が十分に回収できていないことが分かった。

【考察】

以上の結果より、イソプロパノール沈殿における High-Salt Precipitation Solution の使用は、ポリサッカライド等の夾雑物の除去に有効であるが、低分子 RNA (ISOGEN より抽出) の収量の低下を及ぼす可能性がある。